

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

---

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Aneta Kalužíková

POROVNÁNÍ METOD PRO STANOVENÍ PARACETAMOLU

The Comparison of Methods for the Determination of  
Paracetamol

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Karel Nesměrák, Ph.D.

Praha 2013

Tato bakalářská práce vznikla v souvislosti s řešením výzkumného záměru MSM0021620857.

## Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity

v Praze dne 9. května 2013.

## Poděkování

Ráda bych poděkovala mému školiteli RNDr. Karlu Nesměrákovi, Ph.D. za odbornou pomoc a cenné rady, jež mi poskytoval během vypracovávání této bakalářské práce. Rovněž děkuji svým rodičům a sestře za veškerou podporu a pomoc, které se mi od nich dostává.

## Abstrakt

Cílem této bakalářské práce bylo porovnat a zhodnotit vybrané analytické metody pro stanovení obsahu paracetamolu v léčivých přípravcích z hlediska jejich přesnosti, správnosti, finanční a časové náročnosti. Ke stanovení byly vybrány čtyři metody: cerimetrická titrace s vizuální indikací konce titrace, VIS spektrofotometrie, UV spektrofotometrie a diferenční pulsní voltametrie. Dále byly zvoleny čtyři léčivé přípravky: tablety, potahované tablety, čípky a infuzní roztok. Nejpresnější výsledky poskytla cerimetrická titrace, naopak nejméně přesné bylo VIS spektrofotometrické stanovení. Přímé spektrofotometrické stanovení v UV oblasti a diferenční pulsní voltametrie u tuhých lékových forem se co do správnosti shodly s deklarovanou hodnotou, tj. povoleným rozmezím obsahu paracetamolu v léčivých přípravcích. Finančně nejvýhodnější byla spektrofotometrická stanovení, naopak nejdražší bylo cerimetrické stanovení. Z časového hlediska byla nejrychlejší metodou cerimetrická titrace, časově nejnáročnější pak bylo VIS spektrofotometrické stanovení.

Klíčová slova: paracetamol, cerimetrie, VIS a UV spektrofotometrie, diferenční pulsní voltametrie

## Abstract

The aim of this bachelor's thesis is to compare chosen analytical methods for the determination of paracetamol in dosage forms. The correctness, the accuracy, financial and time demands were compared. The four methods were chosen: cerimetric titration with visual indication of the equivalence point, VIS and UV spectrophotometry and differential-pulse voltammetry. The amount of paracetamol was determined in four dosage forms: tablets, coated tablets, suppositories, and infusion. The most accurate method was cerimetric titration on the other hand the less accurate was VIS spectrophotometric determination. The obtained results of UV spectrophotometry and differential-pulse voltammetry (in solid dosage forms) were accurate in comparison with the declared value, i.e. permitted range of content of paracetamol permitted by Pharmacopoeia. The minimum time was demanded for the cerimetric titration. Regarding financial demands the most advantageous methods were both VIS and UV spectrophotometry.

Key words: paracetamol, cerimetry, VIS and UV spectrophotometry, differential-pulse voltammetry

# Obsah

1	Cíl bakalářské práce .....	8
2	Teoretická část.....	9
2.1	Paracetamol .....	9
2.1.1	Chemické a fyzikálně-chemické vlastnosti .....	9
2.1.2	Syntéza paracetamolu .....	10
2.1.3	Farmakologie .....	10
2.1.4	Dávkování .....	11
2.2	Metody stanovení paracetamolu .....	12
2.3	Principy vybraných metod pro stanovení paracetamolu .....	12
2.3.1	Cerimetrická titrace s vizuální indikací konce titrace .....	13
2.3.2	Spektrofotometrické stanovení.....	14
2.3.3	Diferenční pulsní voltametrie .....	14
3	Experimentální část .....	15
3.1	Lékové formy .....	15
3.2	Použité chemikálie .....	15
3.3	Pracovní postupy použitých metod .....	16
3.3.1	Cerimetrická titrace .....	16
3.3.2	VIS spektrofotometrie .....	18
3.3.3	UV spektrofotometrie .....	20
3.3.4	Diferenční pulsní voltametrie .....	21
3.4	Statistické zpracování naměřených hodnot .....	23
4	Výsledky a diskuze .....	25
4.1	Cerimetrická titrace s vizuální indikací konce titrace .....	25
4.2	VIS spektrofotometrie.....	26
4.3	UV spektrofotometrie .....	28
4.4	Diferenční-pulsní voltametrie .....	30
4.5	Vyhodnocení správnosti, přesnosti, finanční a časové náročnosti vybraných metod .....	32
5	Závěr .....	35
	Literatura .....	36

## Seznam použitých zkratek a symbolů

$c$	molární koncentrace [ $\text{mol dm}^{-3}$ ]
$f$	faktor odměrného roztoku
$m$	hmotnost [mg]
$M$	molární hmotnost [ $\text{g mol}^{-1}$ ]
$n$	počet měření
$pK_a$	disociační konstanta kyseliny
$V$	objem [ml]
$w$	obsah složky ve vzorku [hmotnostní %]

# 1 Cíl bakalářské práce

Cílem této bakalářské práce je porovnat a zhodnotit čtyři vybrané analytické metody (cerimetrická titrace, VIS a UV spektrofotometrie a diferenční pulsní voltametrie) pro stanovení obsahu paracetamolu ve čtyřech různých lékových přípravcích (tabletách, potahovaných tabletách, čípcích a infuzním roztoku) z hlediska jejich přesnosti, správnosti, finanční a časové náročnosti.



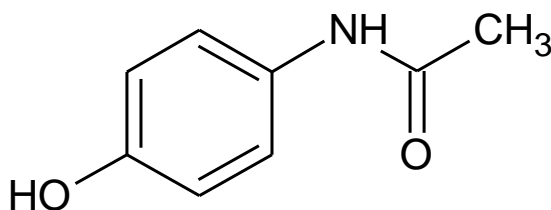
## 2 Teoretická část

### 2.1 Paracetamol

Paracetamol je v posledních letech považován za celosvětově nejrozšířenější analgetikum pro léčbu mírné až středně silné akutní či chronické bolesti. Paracetamol byl vyvinut již v roce 1893 německým lékařem Josephem von Mehringem, avšak na farmaceutický trh byl uveden až v roce 1953 společností Sterling-Winthrop. Jedná se o derivát anilinu; prvním terapeuticky využívaným derivátem anilinu byl *p*-aminofenol, od jehož klinického užívání se upustilo z důvodu jeho vedlejších účinků, např. methemoglobinémie. Snaha o snížení toxicity *p*-aminofenolu vedla k acetylaci aminoskupiny za vzniku *N*-acetyl-*p*-aminofenolu, tedy paracetamolu. Ukázalo se, že tato látka má nejen nižší toxicitu, nýbrž i lepší antipyretické účinky [1,4].

#### 2.1.1 Chemické a fyzikálně-chemické vlastnosti

Paracetamol (obr 2.1), systematicky *N*-(4-hydroxyfenyl)acetamid, je bílý nebo téměř bílý krystalický prášek velmi málo rozpustný ve studené vodě, podstatně lépe rozpustný v teplé vodě, dobře rozpustný v methanolu či ethanolu a velmi těžce rozpustný v etheru a v dichlormethanu. Jeho sumární vzorec je  $C_8H_9NO_2$  a molární hmotnost  $151,163 \text{ g mol}^{-1}$ . Bod tání paracetamolu se pohybuje v rozmezí od  $169,0\text{--}170,5 \text{ }^\circ\text{C}$ . Hodnota  $pK_a$  při  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  je 9,51. Paracetamol je stabilní při pH v rozmezí 4–7 při  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ . Paracetamol je tvořen benzenovým jádrem, na kterém jsou navázány hydroxylová a amidová skupina v navzájem para poloze. Díky přítomnosti těchto skupin benzenové jádro snadno podléhá elektrofilní aromatické substituci [3, 11].



Obrázek 2.1 Chemická struktura paracetamolu

### 2.1.2 Syntéza paracetamolu

Výchozím krokem syntézy paracetamolu je nukleofilní substituce, kdy z *p*-chlornitrobenzenu vzniká *p*-nitrofenol. V dalších dvou krocích dochází k redukci nitroskupiny a následné acetylaci za vzniku paracetamolu. Alternativní postup přípravy *p*-aminofenolu představuje elektrochemická redukce nitrobenzenu v kyselém prostředí, v němž redukcí vzniklý fenyhydroxylamin ihned přesmykuje na *p*-aminofenol (tzv. Bambergerův přesmyk) [4].

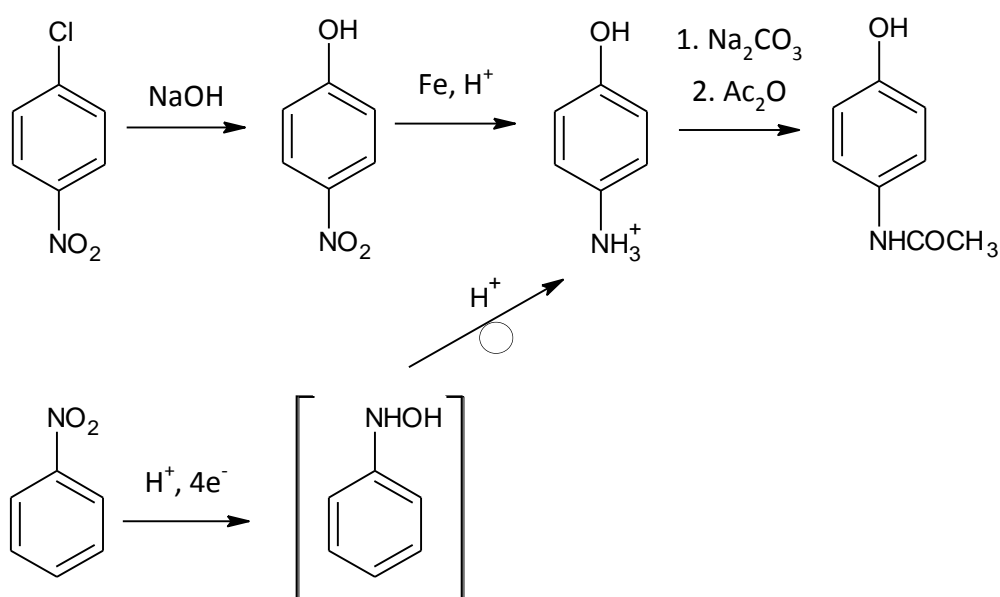


Schéma 2.1 Syntéza paracetamolu

### 2.1.3 Farmakologie

Paracetamol má kromě analgetického také antipyretický účinek. Přesný mechanismus působení paracetamolu není dosud zcela objasněn. Jeho primární účinek je pravděpodobně založen na inhibici cyklooxygenasy v hypotalamu, a tedy tvorba prostanoidů. V posledních letech se však diskutuje o ovlivnění sestupných serotonergních drah či modulaci endogenního kanabinoidního systému. Oproti acetylsalicylové kyselině má paracetamol výrazně lepší gastrointestinální snášenlivost a neovlivňuje krevní srážlivost [2, 6].

Nízké dávky paracetamolu jsou poměrně rychle a snadno absorbovány, zatímco absorpce paracetamolu při vysokých dávkách se u lidí značně liší. Absorpce závisí hlavně na rychlosti vyprazdňování žaludku, na přítomnosti potravy a v neposlední řadě také na denní době. Paracetamol se primárně metabolizuje v játrech (kinetikou 1. řádu), kde dochází ke konjugaci s kyselinou glukuronovou (~60 %), kyselinou sírovou (~35 %) a cysteinem (~3 %). Určitá část paracetamolu je oxidována vlivem cytochromu P-450 na toxický, vysoce reaktivní intermediát *N*-acetyl-*p*-amino-benzochinon imin. Jestliže je příjem paracetamolu výrazně vyšší (> 8 g) než doporučená terapeutická dávka, cesta glukuronidace a sulfatace je saturována a na důležitosti nabývá cesta cytochromu P-450. Je-li v játrech dostatek sloučenin s volnými SH-skupinami, zejména glutathionu, reaktivní meziprodukt se konjugací detoxikuje a nebezpečí hepatotoxicity je malé. Po čase se však zásoba glutathionu v játrech vyčerpává rychleji, než se stačí obnovovat a hromadí se toxický *N*-acetyl-*p*-amino-benzochinon imin. Ten pak reaguje s nukleofilními skupinami přítomnými v buněčných makromolekulách a vyvolává nekrózu jaterních buněk. Toxicita se zvyšuje úměrně konzumaci alkoholu. Aby se intoxikaci paracetamolem zabránilo, je nutné neprodleně (do deseti hodin po požití látky) podat donátory SH-skupin, např. *N*-acetylcystein. Vrcholová koncentrace paracetamolu v krvi je dosažena obvykle za 30–60 minut. Biologický poločas paracetamolu je 2–3 hodiny, při toxických množstvích nebo při jaterním onemocnění může být prodloužen na dvojnásobek i více. Po 24 hodinách od podání je 90–100 % látky vyloučeno v moči [3, 7].

#### **2.1.4 Dávkování**

Mezi nejběžněji užívané lékové formy paracetamolu patří tablety, potahované tablety, šumivé tablety, čípky, perorální suspenze, pro léčbu pooperačních bolestí se používá také infuzní roztok. Jednotlivé lékové formy jsou k dostání ve 100, 125 a 500mg provedení.

Dávka závisí na tělesné hmotnosti a věku. Pro dospělé osoby se jednotlivá dávka pohybuje od 10 do 15 mg/kg tělesné hmotnosti s maximální denní dávkou 60 mg/kg tělesné hmotnosti, s tím, že maximální denní dávka nesmí překročit 4 gramy.

Maximální jednotlivá dávka je jeden gram. Interval mezi jednotlivými dávkami musí být alespoň čtyři hodiny. U dětských pacientů je třeba brát ohled na jejich věk a váhu [16].

## 2.2 Metody stanovení paracetamolu

Přehled metod pro stanovení paracetamolu v léčivech, léčivých přípravcích či jiných přírodních vzorcích založených na optických metodách, elektrochemických metodách, chromatografických metodách, kapilárních elektroforetických metodách podali v přehledném článku Espinoza Bosch a kol. [8].

Mezi nejběžnější metody stanovení paracetamolu patří titrace, UV/VIS spektrofotometrie, spektrofluorimetrie či IR spektrometrie. Metody založené na hydrolýze paracetamolu jsou méně vhodné, neboť vzniká *p*-aminofenol, který následně příslušnou reakcí vytváří barevný komplex, jež může zvýšit spotřebu reagentu, čas analýzy či pravděpodobnost kontaminace vzorku. Kvůli tomuto přípravnému kroku jsou jednotlivá stanovení pracnější a méně atraktivní pro multivzorkové analýzy. Různá odvětví chemického a farmaceutického průmyslu, která běžně analyzují velká množství vzorků z důvodu kontroly kvality, proto volí jednoduché, časově nenáročné metody bez preanalytických kroků, např. flow-injection s chemiluminiscenčním detektorem.

Lékopisnou metodou stanovení paracetamolu je cerimetrická titrace s vizuální indikací konce titrace. V substanci požaduje lékopis nalezení obsahu mezi 99,0–101,0% obsah paracetamolu v jeho lékových formách musí být mezi 95,0–105,0 % deklarovaného obsahu [10, 12].

## 2.3 Principy vybraných metod pro stanovení paracetamolu

Pro tuto bakalářskou práci byly vybrány čtyři metody pro stanovení obsahu paracetamolu, a to cerimetrická titrace s vizuální indikací konce titrace, UV a VIS spektrofotometrie a diferenční pulsní voltametrie.

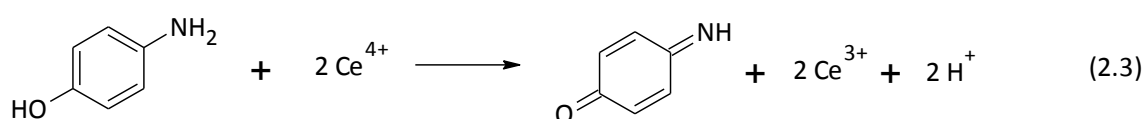
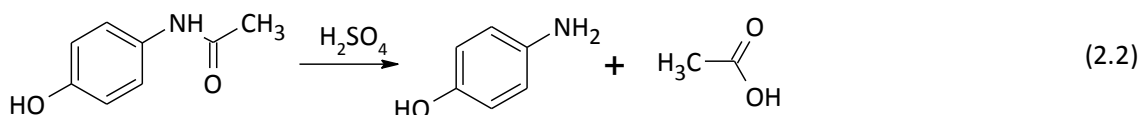
### 2.3.1 Cerimetrická titrace s vizuální indikací konce titrace

Cerimetrická titrace, neboli cerimetrie, je jednou z metod odměrné analýzy (volumetrie), patří mezi oxidačně-redukční titrace. Ceričitá sůl je v kyselém prostředí dobrým oxidačním činidlem, a proto se užívá při odměrných stanoveních řady látek redukčního charakteru. Princip cerimetrických titrací vystihuje dílčí reakce



Odměrný roztok síranu ceričitého je zbarven sytě žlutě, oproti manganistanu je stálý i za tepla a titrace nejsou rušeny přítomností chloridových iontů. Odměrný roztok ceričité soli je nutno standardizovat na vhodný primární standard, jako například dihydrát šťavelové kyseliny či thiosíran sodný.

Cerimetrické stanovení obsahu paracetamolu je založeno na jeho kyselé hydrolýze na *p*-aminofenol, který je ceričitými ionty oxidován na *p*-benzochinon imin, podle rovnice



Bod ekvivalence se dá určit vizuálně pomocí vhodných oxidoredukčních indikátorů nebo instrumentálně, kdy se zjišťuje závislost změny fyzikální veličiny (např. potenciálu, vodivosti, absorpance) na objemu přidávaného odměrného činidla. V této bakalářské práci byla zvolena vizuální indikace konce titrace pomocí feroinu jako indikátoru. Červený feroin se nadbytkem titračního činidla oxidační na modrý feriin [10].

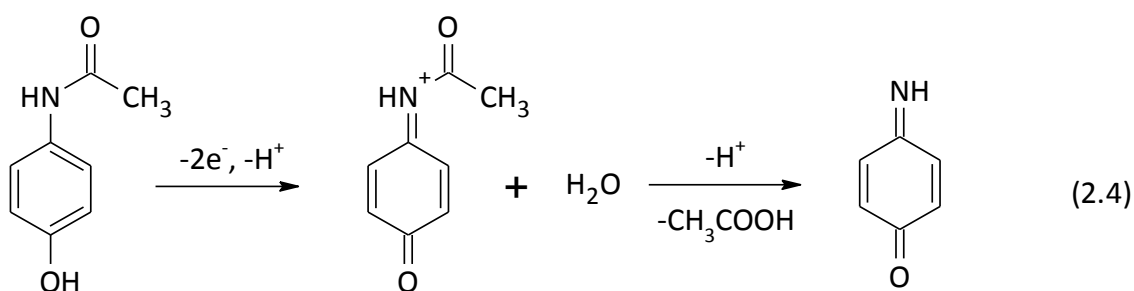
### 2.3.2 Spektrofotometrické stanovení

Pro tuto bakalářskou práci bylo zvoleno VIS spektrofotometrické stanovení podle Fardouse a kol. [12]. Tato metoda je založena na reakci *p*-aminofenolu, vzniklém hydrolyzou paracetamolu, se sulfidem sodným v přítomnosti síranu amonno-železitého jako oxidačního činidla za vzniku modro-fialového barevného komplexu (vlnová délka maxima 550 nm). Vzniklý barevný komplex je stabilní po dobu nejméně tří hodin.

Jako druhá metoda bylo zvoleno přímé spektrofotometrické stanovení v UV oblasti [9]. Principem této metody je bazická hydrolyza paracetamolu pomocí hydroxidu sodného na *p*-aminofenol. Absorbanci výsledného roztoku je možno měřit pomocí UV spektrometru při vlnové délce maxima 257 nm.

### 2.3.3 Diferenční pulsní voltametrie

Pro tuto bakalářskou práci byla zvolena metoda diferenční pulsní voltametrie podle Lau a kol. [13], která používá klasické tříelektrodové zapojení – pracovní elektroda ze skelného uhlíku, referenční argentchloridová elektroda a pomocná platinová elektroda. Jako základní elektrolyt byl použit roztok methanolu a 0,1M kyseliny chloristé v poměru 1:1. Elektrodová reakce [14] spočívá v oxidaci paracetamolu na *N*-acetyl-*p*-benzochinon imin a jeho následné hydrolyze za vzniku *p*-benzochinon iminu



## 3 Experimentální část

### 3.1 Lékové formy

Pro stanovení obsahu paracetamolu byly použity tyto lékové formy:

1. tablety Paralen 500 mg, Zentiva, Česká republika, šarže 3540312
2. potahované tablety Panadol Novum 500 mg, GlaxoSmithKline, Velká Británie, šarže 006 (použitelné do 12/2014)
3. čípky Paralen Sup 500 mg, Zentiva, Česká republika, šarže 2020312
4. infuzní roztok Perfalgan 10 mg/ml, Bristol-Myers Squibb, šarže 1F65346

### 3.2 Použité chemikálie

- dekahydrát síranu amonno-železnatého – p.a., Lachema
- fenanthrolin.HCl – p.a., Lachema
- ferroin – p.a., Lachema
- hexa hydrát síranu amonno-železnatého – p.a., Lachema
- hydroxid sodný – p.a., Penta
- jodid draselný – p.a., Lachema
- kyselina chlorovodíková – 35%, p.a., Lach-Ner
- kyselina chloristá – 60%, p.a., Sigma-Aldrich
- kyselina sírová – 96%, p.a., Lach-Ner
- methanol – p.a., Sigma-Aldrich
- síran ceričitý – p.a., Sigma-Aldrich
- standard paracetamolu – p.a., Sigma-Aldrich
- sulfid sodný – 60 – 62%, p.a., Pent
- thiosíran sodný – p.a., Lachema

### 3.3 Pracovní postupy použitých metod

#### 3.3.1 Cerimetrická titrace

##### *Příprava roztoků*

1. Odměrný roztok 0,1M síranu ceričitého byl připraven rozpuštěním 20,2 g  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  ve směsi 250 ml destilované vody a 25 ml 95% kyseliny sírové a doplněním destilovanou vodou na objem 500 ml. Jeho přesná koncentrace byla stanovena nepřímou jodometrickou titrací za indikace škrobem. Do jodometrické baňky bylo odpipetováno 10,00 ml roztoku síranu ceričitého, dále bylo přidáno 0,8 g jodidu draselného, 50 ml destilované vody a 20 ml zředěné kyseliny sírové. Obsah baňky byl titrován 0,05M odměrným roztokem thiosíranu sodného do slabě žlutého zabarvení roztoku. Poté bylo přidáno 10 ml roztoku škrobu a obsah titrační baňky byl dále titrován, až jedinou kapkou titračního činidla hnědé zabarvení zmizelo. Ze spotřeby titračního činidla a ze známé stechiometrie byl vypočítán faktor připraveného odměrného roztoku síranu ceričitého.
2. Roztok indikátoru byl připraven rozpuštěním 0,49 g  $\text{FeNH}_4\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  a 0,88 g fenanthrolinu·HCl v destilované vodě v odměrné baňce o objemu 500 ml.
3. Roztok zředěné kyseliny sírové byl připraven zředěním 27,5 ml 95%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  destilovanou vodou na objem 500 ml.
4. Roztok zředěné kyseliny chlorovodíkové byl připraven zředěním 16,8 ml 35% HCl destilovanou vodou na objem 100 ml.

##### *Stanovení*

Stanovení obsahu paracetamolu bylo provedeno podle postupu uvedeného v Britském lékopisu [10]. V případě tablet a potahovaných tablet byly na analytických váhách odváženy vždy tři tablety. Následně byly tablety zhomogenizovány v třecí misce. Podíl odpovídající 300 mg paracetamolu zvážený na analytických váhách byl kvantitativně převeden do varné baňky, bylo přidáno 10 ml destilované vody a 30 ml



zředěné kyseliny sírové. Čípek byl zvážen na analytických váhách a poté převeden rovnou do varné baňky, bylo přidáno 17 ml destilované vody a 50 ml zředěné kyseliny sírové. V případě infuzního roztoku bylo ze zásobní lahve odpipetováno 30,00 ml roztoku do varné baňky, bylo přidáno 10 ml destilované vody a 30 ml zředěné kyseliny sírové. Takto připravené roztoky se nechaly hodinu vařit (100 °C) pod zpětným chladičem. Následující část postupu byla již pro všechny analyzované vzorky stejná. Po zchladnutí se obsah varné baňky kvantitativně převedl do 100ml odměrné baňky, roztok byl doplněn na daný objem destilovanou vodou. Do titrační baňky bylo odpipetováno 20,00 ml tohoto roztoku, přidáno 40 ml destilované vody, 40 g ledu, 15 ml zředěné kyseliny chlorovodíkové a 0,1 ml ferroinu. Obsah titrační baňky byl titrován z byrety, o objemu 25 ml, odměrným roztokem síranu ceričitého, dokud jediná kapka titračního činidla nezměnila zabarvení indikátoru z červené na zelenožlutou.

#### Vyhodnocení

Pro výpočet obsahu paracetamolu v analyzovaných vzorcích tablety, potahované tablety a infuzního roztoku byl použit vzorec

$$w_{\text{PCT}} = \frac{m_{\text{nalez}}}{m_{\text{deklar}}} \cdot 100 = \frac{1}{2} \cdot \frac{c_{\text{Ce}(\text{SO}_4)_2} \cdot f_{\text{Ce}(\text{SO}_4)_2} \cdot V_{\text{Ce}(\text{SO}_4)_2} \cdot M_{\text{PCT}}}{m_{\text{deklar}}} \cdot \frac{100,00}{20,00} \cdot \frac{500}{300} \cdot 100 \quad (3.1)$$

pro čípek

$$w_{\text{PCT}} = \frac{m_{\text{nalez}}}{m_{\text{deklar}}} \cdot 100 = \frac{1}{2} \cdot \frac{c_{\text{Ce}(\text{SO}_4)_2} \cdot f_{\text{Ce}(\text{SO}_4)_2} \cdot V_{\text{Ce}(\text{SO}_4)_2} \cdot M_{\text{PCT}}}{m_{\text{deklar}}} \cdot \frac{100,00}{20,00} \cdot 100 \quad (3.2)$$

kde  $w_{\text{PCT}}$  je obsah paracetamolu v analyzovaném vzorku v procentech deklarovaného obsahu [%],  $m_{\text{nalez}}$  je hmotnost paracetamolu ve vzorku [g],  $m_{\text{deklar}}$  je hmotnostní obsah paracetamolu deklarovaný výrobcem [g],  $c_{\text{Ce}(\text{SO}_4)_2}$  je koncentrace odměrného roztoku síranu ceričitého [ $\text{mol dm}^{-3}$ ],  $V_{\text{Ce}(\text{SO}_4)_2}$  je objem spotřebovaného odměrného roztoku

síranu ceričitého v bodě ekvivalence [ $\text{dm}^3$ ],  $f_{\text{Ce}(\text{SO}_4)_2}$  je faktor odměrného roztoku síranu ceričitého a  $M_{\text{PCT}}$  je molární hmotnost paracetamolu [ $151,136 \text{ g mol}^{-1}$ ].

### 3.3.2 VIS spektrofotometrie

#### *Příprava roztoků*

1. Roztok 0,025% sulfidu sodného byl připraven rozpuštěním 0,125 g bezvodého 50% sulfidu sodného v 250 ml destilované vody.
2. Roztok 0,03M kyseliny sírové byl připraven zředěním 0,5 ml 96%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  destilovanou vodou na objem 300 ml.
3. Roztok 5M kyseliny sírové byl připraven zředěním 69 ml 96%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  destilovanou vodou na objem 250 ml.
4. Roztok 0,5% síranu amonno-železitého byl připraven rozpuštěním 1,5 g  $(\text{NH}_4)\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  ve 300 ml 0,03M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .
5. Standardní roztok paracetamolu byl připraven odvážením 100 mg standardu paracetamolu do 100ml odměrné baňky, s následným přidáním 20 ml 5M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

#### *Stanovení*

Spektrofotometrické měření bylo prováděno na jednopaprskovém spektrofotometru HP 8453 s diodovým polem firmy Hewlett Packard s nanometrovým rozlišením od 190 nm do 1100 nm v kyvetách tloušťky 1 cm.

Pro stanovení obsahu paracetamolu v analyzovaných vzorcích byla zvolena metoda standardního přídávku. Na analytických váhách byly zváženy vždy tři tablety, resp. potahované tablety, následně byly rozetřeny a zhomogenizovány v třecí misce. Podíl odpovídající 100 mg paracetamolu zvážený na analytických váhách byl kvantitativně převeden do 100ml odměrné baňky, bylo přidáno 20 ml 5M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Čípek byl zvážen na analytických váhách a poté převeden do 500ml odměrné baňky, bylo přidáno 100 ml 5M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . V případě injekčního roztoku bylo ze zásobní lahve odpipetováno 10,00 ml roztoku do 100ml odměrné baňky a bylo přidáno 20 ml 5M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Následně byly všechny baňky umístěny do vodní lázně a nechaly se

vařit ve vodní lázni po dobu 30 minut při 100 °C. Po vychladnutí byl obsah jednotlivých baněk doplněn destilovanou vodou na daný objem. Roztoky tablet, potahovaných tablet a čípku byly následně přefiltrovány pomocí filtračního papíru.

Pro metodu standardního přídavku bylo připraveno celkem pět koncentrací. Do 50ml odměrných baněk bylo odpipetováno 0,50 ml roztoku vzorku, dále bylo vzestupně od druhé do páté baňky pipetováno 0,15, 0,25, 0,35 a 0,50 ml standardního roztoku paracetamolu. Poté bylo do každé baňky pipetováno 5 ml 0,025% sulfidu sodného a 5 ml 0,5% roztoku síranu amonno-železitého. Následně byl obsah baňky protřepáván asi 30 sekund a poté se nechal stát 15 minut při laboratorní teplotě. Roztok byl doplněn destilovanou vodou na daný objem a opět se nechal stát 10 minut při laboratorní teplotě. Absorbance jednotlivých roztoků byla proměřena při vlnové délce maxima 550 nm proti příslušnému slepému vzorku. Slepý vzorek byl připraven napipetováním 5 ml 0,025% sulfidu sodného a 5 ml 0,5% roztoku síranu amonno-železitého do 50ml odměrné baňky a doplněním destilovanou vodou na daný objem.

### *Vyhodnocení*

Obsah paracetamolu v analyzovaných vzorcích byl vypočten pomocí získaných kalibračních závislostí a následujícího vzorce

$$w_{PCT} = \frac{m_{nalez}}{m_{deklar}} \cdot 100 = \frac{c_{PCT}}{m_{deklar}} \cdot \frac{1}{1000} \cdot 50,00 \cdot \frac{100,00}{0,50} \cdot \frac{500}{100} \cdot 100 \quad (3.3)$$

kde  $w_{PCT}$  je obsah paracetamolu v analyzovaném vzorku v procentech deklarovaného obsahu [%],  $m_{nalez}$  je hmotnost paracetamolu ve vzorku [mg],  $m_{deklar}$  je hmotnostní obsah paracetamolu deklarovaný výrobcem [mg],  $c_{PCT}$  je koncentrace paracetamolu v analyzovaném roztoku zjištěná z rovnice regrese [ $\mu\text{g cm}^{-3}$ ].

### 3.3.3 UV spektrofotometrie

#### *Příprava roztoků*

1. Roztok 0,5M hydroxidu sodného byl připraven rozpuštěním 10 g pevného hydroxidu sodného v 500 ml destilované vody.
2. Standardní roztok paracetamolu byl připraven odvážením 500 mg standardu paracetamolu do 250ml odměrné baňky, s následným přidáním 20 ml 0,5M NaOH a 100 ml destilované vody.

#### *Stanovení*

Spektrofotometrické měření bylo prováděno na jednopaprskovém spektrofotometru HP 8453 s diodovým polem firmy Hewlett Packard s nanometrovým rozlišením od 190 nm do 1100 nm v křemenných kyvetách tloušťky 1 cm.

Pro stanovení obsahu paracetamolu v analyzovaných vzorcích byla zvolena metoda standardního přídávku. Na analytických váhách zvážená léková forma (tableta, potahovaná tableta, čípek) byla převedena do 250ml odměrné baňky, bylo přidáno 20 ml 0,5M NaOH a 100 ml destilované vody. Ze zásobní lahve infuzního roztoku bylo odpipetováno 50,00 ml roztoku do 250ml odměrné baňky, bylo přidáno 20 ml 0,5M NaOH a 100 ml destilované vody. Baňka se vzorkem čípku byla zahřívána na vodní lázni, dokud se čípek nerozpustil. Takto připravené roztoky byly protřepávány při laboratorní teplotě 15 minut na třepačce. Poté byly roztoky doplněny destilovanou vodou na daný objem. Následně bylo z těchto roztoků odpipetováno 10,00 ml do 100ml odměrné baňky a doplněno destilovanou vodou po rysku.

Pro metodu standardního přídávku bylo připraveno celkem pět koncentrací. Do pěti 50ml odměrných baněk bylo odpipetováno 1,00 ml roztoku vzorku, dále bylo vzestupně od druhé do páté baňky pipetováno 2,25, 3,00 3,75 a 4,50 ml standardního roztoku paracetamolu. Obsah odměrných baněk byl doplněn destilovanou vodou po rysku. Absorbance byla měřena při vlnové délce maxima 257 nm proti destilované vodě.

### Vyhodnocení

Obsah paracetamolu v analyzovaných vzorcích byl vypočten pomocí získaných kalibračních závislostí a následujícího vzorce

$$w_{PCT} = \frac{m_{nalez}}{m_{deklar}} \cdot 100 = \frac{c_{PCT}}{m_{deklar}} \cdot \frac{1}{1000} \cdot 50,00 \cdot \frac{100,00}{1,00} \frac{250,00}{10,00} \cdot 100 \quad (3.4)$$

kde  $w_{PCT}$  je obsah paracetamolu v analyzovaném vzorku v procentech deklarovaného obsahu [%],  $m_{nalez}$  je hmotnost paracetamolu ve vzorku [mg],  $m_{deklar}$  je hmotnostní obsah paracetamolu deklarovaný výrobcem [mg],  $c_{PCT}$  je koncentrace paracetamolu v analyzovaném roztoku zjištěná z rovnice regrese [ $\mu\text{g cm}^{-3}$ ].

### 3.3.4 Diferenční pulsní voltametrie

#### Příprava roztoků

1. Roztok základního elektrolytu byl připraven smísením 100 ml 0,1M kyseliny chloristé a 100 ml methanolu.
2. Roztok 0,1M kyseliny chloristé byl připraven z 60% kyseliny chloristé dvojnásobným ředěním. Nejprve bylo 0,9 ml 60% kyseliny chloristé zředěno destilovanou vodou na objem 100 ml. Dále bylo 9 ml tohoto roztoku zředěno destilovanou vodou na objem 100 ml.
3. Standardní roztok paracetamolu byl připraven rozpuštěním 100 mg standardu paracetamolu ve 100 ml methanolu.

#### Stanovení

Elektrochemické měření bylo prováděno na přístroji PalmSens řízeným programem PalmSensPC, v. 2.0 (obě Palm Instrumentals BV, Holandsko). Voltametrická celá byla tvořena třemi elektrodami; jako pracovní elektroda byla použita disková elektroda ze skelného uhlíku o průměru 3 mm (Radiometr), jako referenční elektroda

byla použita dvoumístková argentchloridová elektroda RE 405 (Theta) a jako pomocná elektroda byla použita platinová drátková elektroda.

Pro stanovení obsahu paracetamolu v analyzovaných vzorcích byla zvolena metoda kalibrační přímky. Do každé z pěti 10ml odměrných baněk bylo postupně pipetováno 200, 300, 500, 800 a 1200  $\mu$ l standardního roztoku paracetamolu a obsah baněk byl poté doplněn roztokem základního elektrolytu po rysku.

Na analytických váhách byly zváženy vždy tři tablety, resp. potahované tablety, následně byly rozetřeny a zhomogenizovány v třecí misce. Podíl odpovídající 50 mg paracetamolu byl zvážen na analytických váhách, kvantitativně převeden do 50ml odměrné baňky a doplněn methanolem na daný objem. Do 10ml odměrné baňky bylo napipetováno 400  $\mu$ l tohoto roztoku a obsah baňky doplněn roztokem základního elektrolytu na daný objem. Čípek byl zvážen na analytických váhách, převeden do 100ml odměrné baňky a doplněn methanolem po rysku. Následně byl roztok čípku zahříván ve vodní lázni, dokud se čípek nerozpustil. Do 10ml odměrné baňky bylo napipetováno 80  $\mu$ l roztoku čípku a obsah baňky doplněn roztokem základního elektrolytu na daný objem. V případě infuzního roztoku bylo ze zásobní lahve odpipetováno 5,00 ml roztoku do 50ml odměrné baňky, jež byla doplněna methanolem po rysku. Do 10ml odměrné baňky bylo napipetováno 400  $\mu$ l tohoto roztoku a obsah baňky doplněn roztokem základního elektrolytu na daný objem.

Takto připravené roztoky byly vždy protřepány a poté převedeny do voltametrické nádoby. Následně byl proveden záznam voltametrické křivky. Měřeno bylo metodou diferenční pulsní voltametrie, přičemž na elektrody byly vkládány pulsy o šířce 0,5 s a modulační amplitudě 50 mV, rychlost polarizace byla 5 mV s<sup>-1</sup>. Každé měření bylo provedeno pětkrát, po každém měření byl povrch pracovní elektrody očištěn buničinou s acetonem.

### Vyhodnocení

Obsah paracetamolu v analyzovaných vzorcích tablety, potahované tablety a infuzního roztoku byl vypočten pomocí získané kalibrační závislosti a následujícího vzorce

$$w_{PCT} = \frac{m_{nalez}}{m_{deklar}} \cdot 100 = \frac{c_{PCT}}{m_{deklar}} \cdot 10,00 \cdot \frac{50,00}{0,400} \cdot \frac{500}{50} \cdot 100 \quad (3.5)$$

$c_{PCT}$  v mg/ml

pro čípek

$$w_{PCT} = \frac{m_{nalez}}{m_{deklar}} \cdot 100 = \frac{c_{PCT}}{m_{deklar}} \cdot 10,00 \cdot \frac{100,00}{0,08} \cdot 100 \quad (3.6)$$

kde  $w_{PCT}$  je obsah paracetamolu v analyzovaném vzorku v procentech deklarovaného obsahu [%],  $m_{nalez}$  je hmotnost paracetamolu ve vzorku [mg],  $m_{deklar}$  je hmotnostní obsah paracetamolu deklarovaný výrobcem [mg],  $c_{PCT}$  je koncentrace paracetamolu v analyzovaném roztoku zjištěná z rovnice regrese [ $\text{mg ml}^{-1}$ ].

### 3.4 Statistické zpracování naměřených hodnot

Všechna naměřená data byla zpracována běžnými statistickými postupy na hladině významnosti 0,95. Tvorba grafů a statistické výpočty byly realizovány pomocí softwarových programů OriginPro 7.0 (Microcal Software, USA) a Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation, USA).

U výsledků cerimetrické titrace a diferenční pulsní voltametrie byl proveden Deanův-Dixonův test pro zjištění odlehlosti výsledků jednotlivých stanovení. Výsledky těchto stanovení jsou udány jako mediány s intervalem spolehlivosti.

U výsledků stanovení metodou kalibrace se standardními přídávky je výsledek tohoto stanovení udán jako hodnota odečtená z kalibrační přímky  $x_E$  s intervalem

spolehlivosti vypočítaným jako násobek standardní odchylky hodnoty odečtené z kalibrační přímky  $s_{x_E}$  a kritické hodnoty Studentova  $t$ -testu, tedy  $x_E \pm t s_{x_E}$ . Hodnota standardní odchylky hodnoty odečtené z kalibrační přímky byla vypočítána z rovnice

$$s_{x_E} = \frac{s_{x/y}}{b} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{\bar{y}^2}{b^2 \sum (x_i - \bar{x})^2}} \quad (3.7)$$

kde  $s_{x/y}$  je standardní odchylka lineární regrese kalibrační přímky,  $b$  je směrnice této lineární regrese,  $n$  je počet bodů kalibrační přímky,  $\bar{y}$  průměr naměřených hodnot závislých proměnných,  $x_i$  hodnoty nezávislé proměnné a  $\bar{x}$  průměr naměřených hodnot nezávislých proměnných.



## 4 Výsledky a diskuze

### 4.1 Cerimetrická titrace s vizuální indikací konce titrace

Cerimetrické stanovení bylo možné provést u všech lékových forem. U každé lékové formy bylo provedeno celkem pět cerimetrických stanovení paracetamolu s vizuální indikací konce titrace. Jednotlivé spotřeby titračního činidla, odpovídající hmotnosti paracetamolu a vypočítaný obsah paracetamolu v analyzovaném vzorku v procentech deklarovaného obsahu jsou uvedeny v tab. 4.1.

Podle Deanova-Dixonova testu nebyl žádný výsledek vyloučen jako odlehlý. V analyzovaném vzorku tablety byl obsah paracetamolu v procentech deklarovaného obsahu stanoven na  $106,9 \pm 0,5$  % v potahovaných tabletách na  $108,0 \pm 0,5$  %, v čípcích na  $110,3 \pm 0,3$  % a v infuzním roztoku na  $112,3 \pm 1,0$  %.

Tab. 4.1. Výsledky stanovení obsahu paracetamolu v lékových formách pomocí cerimetrické titrace s vizuální indikací konce titrace. Spotřeby titračního činidla, odpovídající hmotnosti paracetamolu a vypočítaný obsah paracetamolu v analyzovaném vzorku v procentech deklarovaného obsahu.

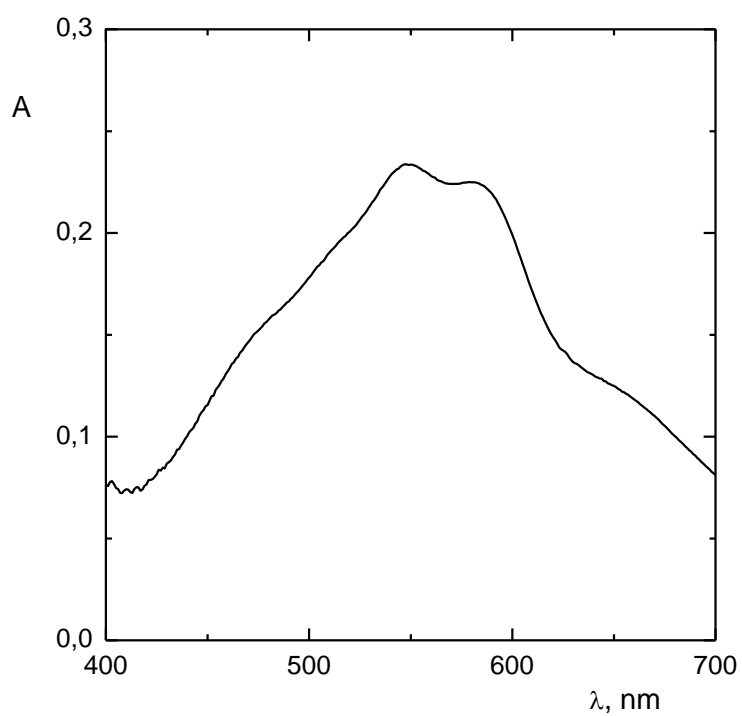
vzorek	stanovení	$V_{\text{Ce(SO}_4)_2}$ [ml]	$m_{\text{PCT}}$ [mg]	$w_{\text{PCT}}$ [%]
Paralen 500 mg	1.	10,00	534,4	106,9
	2.	10,00	534,4	106,9
	3.	10,10	539,8	108,0
	4.	10,10	539,8	108,0
	5.	10,00	534,4	107,0
Panadol Novum 500 mg	1.	10,00	534,4	107,0
	2.	10,10	539,8	108,0
	3.	10,10	539,8	108,0
	4.	10,10	539,8	108,0
	5.	10,00	534,4	107,0
Paralen 500 SUP 500 mg	1.	17,20	551,7	110,3
	2.	17,10	548,5	117,0
	3.	17,20	551,7	110,3
	4.	17,20	551,7	110,3
	5.	17,20	551,7	110,3
Perfalgan 10mg/ml	1.	10,50	561,3	112,3
	2.	10,50	561,3	112,3
	3.	10,60	566,6	113,3
	4.	10,70	572,0	114,4
	5.	10,50	561,3	112,3

## 4.2 VIS spektrofotometrie

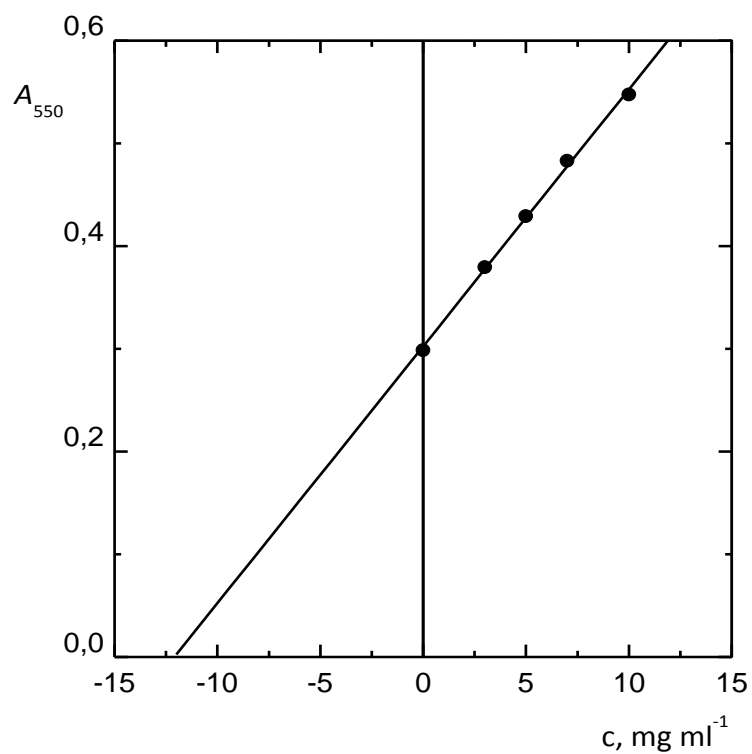
Stanovení obsahu paracetamolu pomocí VIS spektrofotometrie bylo rovněž možné provést u všech lékových forem. Na obr. 4.1. je pro ilustraci uvedeno naměřené VIS absorpční spektrum při spektrofotometrickém stanovení paracetamolu v tabletách Paralen ( $c = 12,1 \text{ mg/l}$ ,  $l = 1 \text{ cm}$ ). Na obr. 4.2. je znázorněna závislost absorbance při 550 nm na koncentraci standardního přídatku paracetamolu při stanovení obsahu paracetamolu v tabletách Paralen. Koncentrace získaná z kalibrační přímky, vypočítané hmotnosti paracetamolu v analyzovaných vzorcích a vypočítaný obsah paracetamolu v analyzovaném vzorku v procentech deklarovaného obsahu jsou uvedeny v tab. 4.2.

Tab. 4.2. Výsledky stanovení paracetamolu v lékových formách pomocí VIS spektrofotometrie. Změřená koncentrace paracetamolu při metodě standardního přídatku, vypočítaná hmotnost paracetamolu v analyzovaném vzorku a obsah paracetamolu v analyzovaném vzorku v procentech deklarovaného obsahu.

vzorek (deklarovaný obsah)	$c_{\text{PCT}} [\mu\text{g/ml}]$	$m_{\text{PCT}} [\text{mg}]$	$w_{\text{PCT}} [\%]$
Paralen (500 mg)	$12,1 \pm 0,3$	$605 \pm 15$	$121 \pm 3$
Panadol Novum (500 mg)	$11,9 \pm 0,7$	$595 \pm 35$	$119 \pm 7$
Paralen 500 SUP (500 mg)	$12,1 \pm 0,7$	$606 \pm 35$	$121 \pm 7$
Perfalgan (10mg/ml)	$13,0 \pm 2,0$	$650 \pm 100$	$130 \pm 20$



Obr. 4.1. VIS absorpční spektrum při spektrofotometrickém stanovení paracetamolu v tabletách Paralen ( $c = 12,1 \text{ mg/l}$ ,  $l = 1 \text{ cm}$ ).



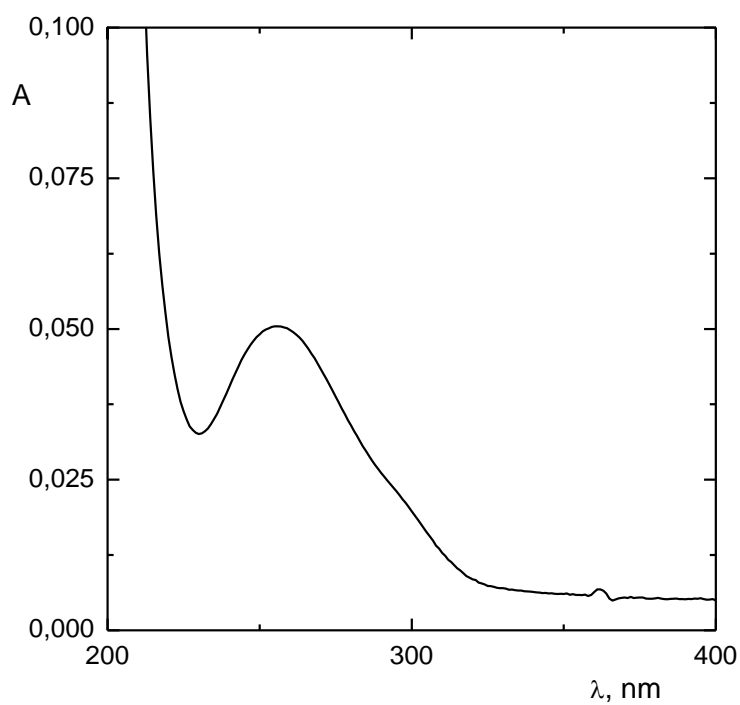
Obr. 4.2. Závislost absorbance při 550 nm na koncentraci standardního přídatku paracetamolu při stanovení obsahu paracetamolu v tabletách Paralen ( $l = 1 \text{ cm}$ ).

### 4.3 UV spektrofotometrie

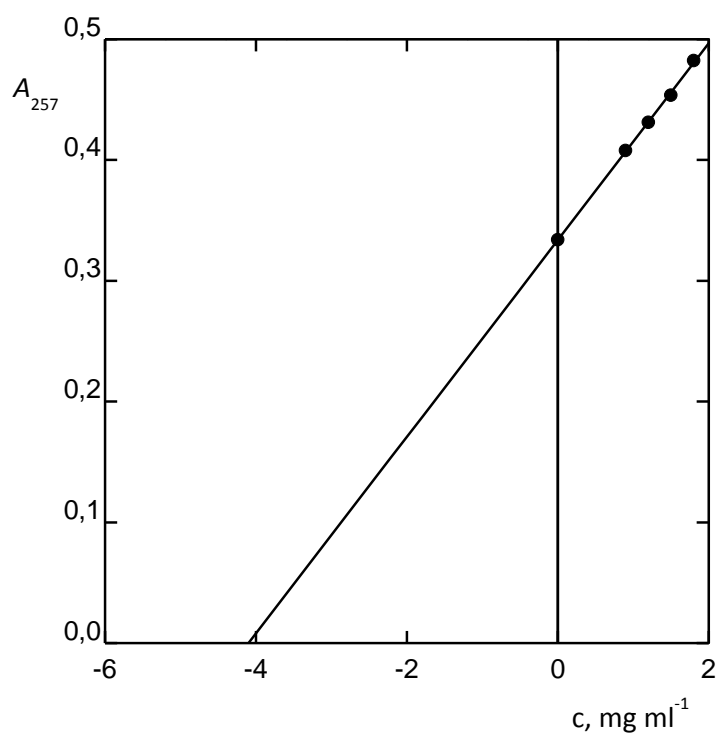
Metodu UV spektrofotometrie pro stanovení obsahu paracetamolu bylo možné provést u všech lékových forem. Na obr. 4.3 je pro ilustraci uvedeno naměřené UV absorpční spektrum při spektrofotometrickém stanovení paracetamolu v tabletách Paralen. Na obr. 4.4 je znázorněna závislost absorpance při 257 nm na koncentraci standardního přídávku paracetamolu při stanovení obsahu paracetamolu v tabletách Paralen. Koncentrace získaná z kalibrační přímky, vypočítané hmotnosti paracetamolu v analyzovaných vzorcích a vypočítaný obsah paracetamolu v analyzovaném vzorku v procentech deklarovaného obsahu jsou uvedeny v tab. 4.3.

Tab. 4.3 Výsledky stanovení obsahu paracetamolu v lékových formách pomocí UV spektrofotometrie. Změřená koncentrace paracetamolu při metodě standardního přídávku, vypočítaná hmotnost paracetamolu v analyzovaném vzorku a obsah paracetamolu v analyzovaném vzorku v procentech deklarovaného obsahu.

vzorek (deklarovaný obsah)	$c_{\text{PCT}}$ [ $\mu\text{g/ml}$ ]	$m_{\text{PCT}}$ [mg]	$w_{\text{PCT}}$ [%]
Paralen (500 mg)	$4,1 \pm 0,1$	$513 \pm 13$	$103 \pm 3$
Panadol Novum (500 mg)	$4,2 \pm 0,2$	$525 \pm 35$	$105 \pm 5$
Paralen 500 SUP (500 mg)	$3,8 \pm 0,1$	$475 \pm 13$	$95 \pm 3$
Perfalgen (10mg/ml)	$4,0 \pm 0,3$	$500 \pm 38$	$100 \pm 8$



Obr. 4.3 UV absorpční spektrum při spektrofotometrickém stanovení paracetamolu v tabletách Paralen ( $c = 4,1 \text{ mg/l}$ ,  $l = 1 \text{ cm}$ ).

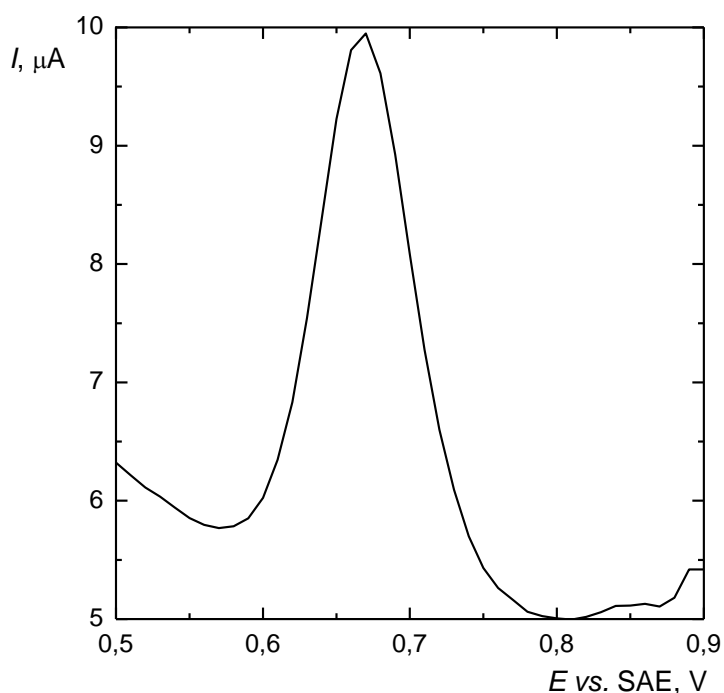


Obr. 4.4 Závislost absorbance při 257 nm na koncentraci standardního přídatku paracetamolu při stanovení obsahu paracetamolu v tabletách Paralen.

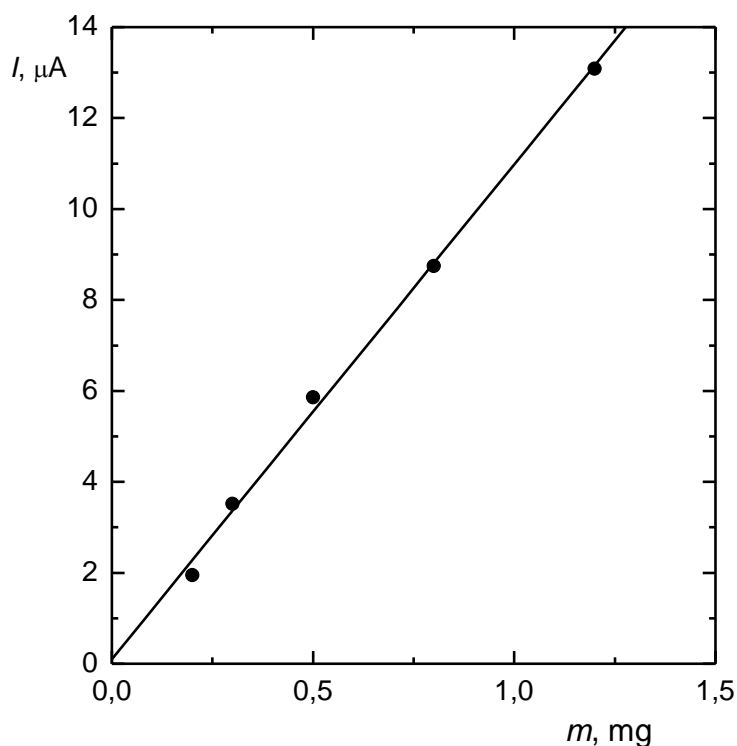
#### 4.4 Diferenční pulsní voltametrie

Stanovení obsahu paracetamolu pomocí diferenční pulsní voltametrie bylo možné provést u všech lékových forem. U každé lékové formy byla provedena celkem tři voltametrická stanovení. Na obr 4. 5. je pro ilustraci uveden voltamogram analyzovaného vzorku tablety. Na obr 4. 6. je znázorněna kalibrační závislost velikosti proudu na hmotnosti paracetamolu v analyzovaném roztoku. Jednotlivé hmotnosti obsahu paracetamolu získané z kalibrační závislosti, vypočítané hmotnosti paracetamolu v analyzovaných vzorcích a vypočítaný obsah paracetamolu v analyzovaném vzorku v procentech deklarovaného obsahu jsou uvedeny v tab. 4. 4.

Podle Deanova-Dixonova testu byl vyloučen jeden výsledek u stanovení obsahu paracetamolu v infuzním roztoku. V analyzovaném vzorku tablety byl obsah paracetamolu v procentech deklarovaného obsahu stanoven na  $98 \pm 6 \%$ , v potahovaných tabletách na  $97 \pm 7 \%$ , v čípku na  $99 \pm 12 \%$  a v infuzním roztoku na  $113 \pm 2 \%$ .



Obr. 4.5. Voltamogram analyzovaného vzorku tablety Paralen ( $c = 0,04 \text{ mg ml}^{-1}$ ) měřený technikou difereční pulsní voltametrie na elektrodě ze skelného uhlíku ( $d = 3 \text{ mm}$ ) v prostředí základního elektrolytu – kyselina chloristá:methanol v poměru 1:1.



Obr. 4.6. Kalibrační závislost proudu voltametrického peaku ( $E_p = 0,655$  V vs. SCE) na hmotnosti paracetamolu přítomného v 10 ml základního elektrolytu (kyselina chloristá:methanol v poměru 1:1).

Tab. 4.4. Výsledky stanovení obsahu paracetamolu v lékových formách pomocí diferenční pulsní voltametrie. Hmotnost paracetamolu získaná z kalibrační přímky, vypočítaná hmotnost paracetamolu v analyzovaných vzorcích a vypočítaný obsah paracetamolu v analyzovaném vzorku v procentech deklarovaného obsahu.

Vzorek	Stanovení	Hmotnost [mg] získaná z kalibrační přímky	$m_{PCT}$ [mg]	$w_{PCT}$ [%]
Paralen 500 mg	1.	0,39	490	98,0
	2.	0,38	473	94,6
	3.	0,40	497	99,5
Panadol Novum 500 mg	1.	0,39	486	97,3
	2.	0,38	470	94,1
	3.	0,40	497	99,5
Paralen 500 SUP 500 mg	1.	0,40	503	100,7
	2.	0,40	497	99,5
	3.	0,37	457	91,5
Perfalgen 10mg/ml	2.	0,45	565	113,2
	3.	0,45	564	112,9

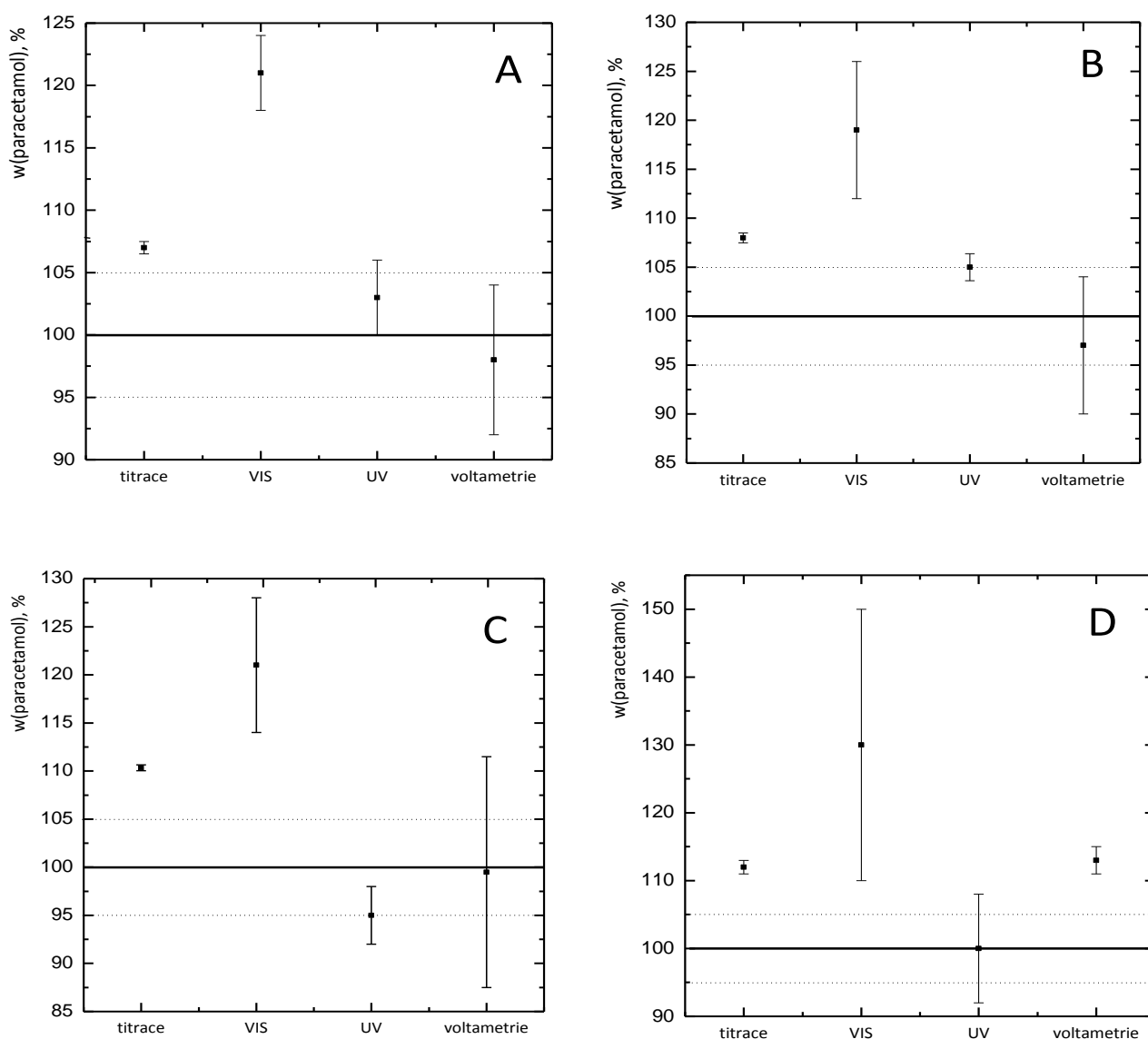
#### **4.5 Vyhodnocení správnosti, přesnosti, finanční a časové náročnosti vybraných metod**

Správnost stanovení vybranými analytickými metodami pro jednotlivé lékové formy je porovnána pouze graficky (obr. 4.7), neboť v analyzovaných lékových přípravcích není přesně definován obsah paracetamolu. Podle Českého lékopisu [11] se obsah paracetamolu v různých lékových formách může pohybovat v rozmezí od 95–105 %.

Porovnání přesnosti výsledků jednotlivých metod stanovení, založené na grafickém zobrazení mediánu s intervalem spolehlivosti, je uvedeno rovněž na obr. 4.7.

Z obr. 4.7 je patrné, že VIS spektrofotometrické stanovení bylo nejen nejméně přesné, ale navíc poskytlo mnohem vyšší hodnoty množství paracetamolu ve vzorcích než ostatní vybrané metody stanovení. Výsledky cerimetrického stanovení ležely mimo povolené rozmezí, avšak ve srovnání se zbylými metodami byla tato metoda stanovení velice přesná. Správnost této metody byla pravděpodobně zatížena subjektivní chybou, která spočívala ve vizuální indikaci konce titrace. Přímé spektrofotometrické stanovení v UV oblasti stejně jako stanovení pomocí diferenční pulsní voltametrie poskytlo správné výsledky, avšak s velkým intervalem spolehlivosti. Nepřesnost voltametrického stanovení mohla být způsobena špatným pipetováním, hrubou chybou při přípravě kalibrační řady roztoků či nedokonalým čištěním povrchu elektrody se skelným uhlíkem během analýzy.





Obr. 4.7 Porovnání výsledků stanovení jednotlivými metodami (titrace – cerimetrická titrace s vizuální indikací konce titrace, VIS – VIS spektrofotometrické stanovení, UV – UV spektrofotometrické stanovení, voltametrie – stanovení pomocí diferenční pulsní voltametrie) pro vybrané druhy lékových forem s obsahem paracetamolu (A) tablety Paralen 500 mg, (B) potahované tablety Panadol Novum 500 mg, (C) čípky Paralen Sup 500 mg a (D) infuzní roztok Perfalgan 10 mg/ml. Výsledky jsou udány jako mediány nalezených množství paracetamolu s vyznačeným intervalem spolehlivosti, plná čára vyznačuje deklarovaný obsah paracetamolu, tečkovaná čára pak horní a dolní limit obsahu paracetamolu v lékových formách podle Českého lékopisu 2009.

Finanční náročnost použitých metod byla vyhodnocena jako finanční náklady na chemikálie potřebné ke stanovení jednoho vzorku. Do nákladů nebyla zahrnuta pořizovací cena analyzovaných vzorků pro měření ani náklady na pořízení instrumentálního vybavení. Ceny chemikálií byly převzaty z ceníků dodavatelů chemikálií [17].

Časová náročnost jednotlivých metod představuje průměrný čas potřebný k provedení celé analýzy jednoho vzorku, tedy čas, který uplyne od navážení vzorku až po vlastní výpočet obsahu paracetamolu. Čas pro přípravu pomocných nebo odměrných roztoků, standardizaci roztoku a přípravu kalibračních roztoků nebyl zahrnut.

Zjištěné finanční i časové náročnosti použitých metod jsou uvedeny v tab. 4.5. Jako finančně nejvýhodnější se ukazují VIS a UV spektrofotometrická stanovení, naopak nejdražší je cerimetrické stanovení, z důvodu vysoké pořizovací ceny síranu ceričitého. Časově nejnáročnější jsou spektrofotometrická stanovení vzhledem k preanalytickým krokům a samotnému způsobu měření, naopak časově nejvýhodnější je metoda cerimetrické titrace.

Tab. 4.5 Časová a finanční náročnost jednotlivých vybraných metod pro stanovení obsahu paracetamolu v lékových formách.

metoda	Časová náročnost	Finanční náročnost
	[min]	[Kč]
Cerimetrická titrace	6	130
VIS spektrofotometrie	70	2
UV spektrofotometrie	50	1
Diferenční pulsní voltametrie	20	120

## 5 Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo porovnat čtyři analytické metody pro stanovení paracetamolu ve čtyřech léčivých přípravcích z hlediska jejich správnosti, přesnosti, časové a finanční náročnosti.

Pro stanovení paracetamolu byly vybrány čtyři metody: cerimetrická titrace s vizuální indikací konce titrace, VIS spektrofotometrie, UV spektrofotometrie a diferenční pulsní voltametrie. Nejpresnější výsledky poskytla cerimetrická titrace, naopak nejméně přesné bylo VIS spektrofotometrické stanovení, což bylo pravděpodobně způsobeno hrubou chybou v kalibraci nebo přítomností pomocných látek v lékových formách, které mohly stanovení rušit. Přímé spektrofotometrické stanovení v UV oblasti a diferenční pulsní voltametrie u tuhých lékových forem se co do správnosti shodly s deklarovanou hodnotou, tj. povoleným rozmezím obsahu paracetamolu v léčivých přípravcích podle Českého lékopisu [11].

Finančně nejvýhodnější byla spektrofotometrická stanovení, naopak nejdražší bylo cerimetrické stanovení. Z časového hlediska byla nejrychlejší metodou cerimetrická titrace, časově nejnáročnější pak bylo VIS spektrofotometrické stanovení.

## Literatura

- [1] Howard, S.: *Current Therapy in Pain*. Philadelphia, Saunders, 2009.
- [2] Slíva, J.; Votava, M.: *Farmakologie*. 1. vyd. Praha, Triton 2011.
- [3] Moffat, A. C.; Osselton, M. D.; Widdop, B.; Watts, J.: *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons: In Pharmaceuticals, Body Fluids and Postmortem Material*. 4. vyd. Pharmaceutical Press, 2011.
- [4] Hampl, F.; Paleček, J.: *Farmakochemie*, 1. vyd. Praha, VŠCHT 2002.
- [5] Ellis, F.: *Paracetamol – a curriculum resource*. London, Royal Society of Chemistry 2002.
- [6] Lincová, D.; Farghali, H. a kolektiv: *Základní a aplikovaná farmakologie*. Praha, Galén 2002.
- [7] Katzung, B. G.: *Základní a klinická farmakologie*. 2. vyd. Jinočany, H&H 2006.
- [8] Bosch, E. M.; Sánchez A. J.; Rojas, F. S.; Ojeda, C. B.: Determination of paracetamol: Historical evolution. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **42**, 291 – 321 (2006)
- [9] *British Pharmacopoeia* 2009
- [10] Skoog, D.; West, D. M.: *Fundamentals of analytical chemistry*. 2. vyd. London, Holt, Rinehart and Winston 1972.
- [11] *Český lékopis* 2009
- [12] Fardouse, A. M.; Mohamed, A. A.; Soad, M. S.: Selective spectrophotometric determination of *p*-aminophenol and acetaminophen. *Talanta* **44**, 61 – 68 (1997).
- [13] Lau, O-W.; Luk, S-F; Cheung; Y-M.: Simultaneous determination of ascorbic acid, caffeine and paracetamol in drug formulations by differential-pulse voltammetry using a glassy carbon electrode. *Analyst* **114**:9, 1047-1051 (1989).
- [14] Goyal, R. N.; Singh, S. P.: Voltammetric determination of paracetamol at C<sub>60</sub>-modified glassy carbon electrode. *Electrochimica Acta*, **51**:15, 3008-3012 (2006).
- [15] Miller, J. N.; Miller J. C.: *Statistics and Chemometrics for Analytical chemistry*. 5th ed. Harlow, Pearson Education 2005.

- [16] Kršiak, M., Švihovec, M., Zupanets, I., Kriška, M.: Optimální dávkování paracetamolu při léčbě bolesti a horečky. *Praktické lékařství* 5, 171–174 (2009).
- [17] <<http://www.lach-ner.com/>>; <<http://www.sigmaaldrich.com/czech-republic.html>>; <<http://www.thermofisher.cz/>> (cit. 15.4. 2013)